



EÖTVÖS LORÁND TUDOMÁNYEGYETEM
TERMÉSZETTUDOMÁNYI KAR

GENOTÍPUS ALAPJÁN TÖRTÉNŐ CYP2C19 ÉS CYP2D6 FENOTÍPUS BECSLÉS ÉS KLINIKAI ALKALMAZHATÓSÁGA

című doktori értekezés tézisei

Kiss Ádám Ferenc
Okleveles biomérnök

Témavezető: Dr. Monostory Katalin Ph.D.
tudományos főmunkatárs
Metabolikus Gyógyszer-kölcsönhatások Kutatócsoport

Biológia Doktori Iskola
Doktori Iskola vezető: Dr. Erdei Anna

Szerkezeti Biokémia Program
Programvezető: Dr. Kovács Mihály



Készült: MTA Természettudományi Kutatóközpont, Enzimológiai Intézet

Budapest
2019

1 Bevezetés

A gyógyszeres terápia során a káros gyógyszer-mellékhatások kialakulásáért és a hatás-elmaradásért jelentős mértékben a betegek eltérő gyógyszer-metabolizáló képessége tehető felelőssé. A gyógyszer-metabolizmus egyéni eltéréseiből fakadó problémák kiküszöböléséhez ismernünk kell a lebontó folyamatokban részt vevő enzimek fenotípusának kialakításában szerepet játszó tényezőket, melyek megismerésével lehetővé válik a betegek személyre szabott gyógyszeres terápiája, ezzel csökkentve a hatás-elmaradás és a káros mellékhatások kialakulásának kockázatát. Farmakogenetikai megközelítéssel az egyéni gyógyszer-metabolizáló képességet genetikai információk alapján becsüljük, majd ezek alapján igyekszünk a beteg optimális gyógyszeres kezelését, dozírozását meghatározni. A genetikai információ felhasználásához azonban ismernünk kell a hatóanyagok farmakokinetikáját befolyásoló enzimek genotípus-fenotípus kapcsolatait, valamint azokat a nem-genetikai vagy külső tényezőket, melyek hatással lehetnek az enzimek kifejeződésére és aktivitására a genetikai tulajdonságokon túlmenően.

A citokróm P450 (CYP) enzimek fontos szerepet játszanak a legtöbb gyógyszervegyület metabolizmusában, ezáltal meghatározó szerepük van a xenobiotikumok farmakokinetikájának kialakításában. Kutatómunkánk során két, nagymértékű genetikai polimorfizmussal rendelkező CYP enzim, a CYP2D6 és a CYP2C19 genotípusa és fenotípusa közötti összefüggéseket vizsgáltuk magyarországi szervdonorok májszövetét felhasználva. A genotípus-alapú fenotípus becslés hatékonyságának javítása érdekében olyan nem-genetikai tényezőket kerestünk, melyeket bevonva az értékelésbe javítható a predikció. Az *in vitro* vizsgálatok tapasztalatait két, pszichiátriai betegeknél alkalmazott antipszichotikum, a klozapin és az aripiprazol farmakokinetikájának vizsgálatához igyekeztünk felhasználni, figyelembe véve a betegek *CYP2C19*, illetve a *CYP2D6* és *CYP3A* genotípusát, a hatóanyagok és a metabolitok vérszintjét, valamint CYP enzim gátló vegyületek párhuzamos terápiáját. A hatóanyagok vérszintjét meghatározó tényezők jellemzésével reményeink szerint javítható lesz az antipszichotikum terápia hatékonysága, ezzel csökkenthetjük a hatás-elmaradásnak és a káros mellékhatások kialakulásának kockázatát.

2 Célkitűzések

A farmakogenetika az egyéni gyógyszer-metabolizáló képesség felderítésének oly módja, melynek során a gyógyszer-lebontásban részt vevő enzimek genetikai analízisével kapott információk alapján állítható be az egyéni gyógyszeres terápia. Ehhez azonban pontosan ismernünk kell, hogy egy adott gyógyszer-metabolizáló enzim kifejeződését milyen mértékben határozza meg annak genetikai háttere, illetve milyen egyéb, nem-genetikai tényező hatását kell szükségszerűen figyelembe vennünk a beteg gyógyszer-metabolizáló fenotípusának becslésekor. Munkánk során két, jelentős genetikai polimorfizmussal rendelkező CYP enzim, a CYP2C19 és a CYP2D6 genotípus-fenotípus összefüggéseit vizsgáltuk *in vitro* humán máj mikroszóma frakció felhasználásával.

- 1.1 Célunk volt annak feltárása, hogy a *CYP2C19* és a *CYP2D6* genotípus milyen mértékben határozza meg a CYP2C19 és CYP2D6 enzimek aktivitását, azaz a fenotípust. A *CYP2C19* és a *CYP2D6* genotípus-alapú fenotípus becslés hatékonyságának összehasonlítása rávilágíthat a két gén transzkripciójának szabályozásában fellelhető eltérések jelentőségére, hiszen míg a *CYP2C19* indukcióját több nukleáris faktor (pl. CAR/PXR, GR) mediálhatja, addig a *CYP2D6* jelen ismereteink szerint konstitutívan expresszálódik.
- 1.2 A szervdonorok anamnézisének áttekintésével kerestük azokat a nem-genetikai tényezőket, amelyek felelősek lehetnek a genotípus-fenotípus becslés ellentmondásaiért.

In vitro nyert tapasztalatainkat *in vivo* körülmények között teszteltük antipszichotikummal kezelt pszichiátriai betegek gyógyszer-metabolizáló képességének meghatározásával.

2. Kerestük a választ arra, hogy a *CYP2C19**17 allélvariáns a betegeknél együtt jár-e fokozott *CYP2C19* génexpresszióval.
3. Választ kerestünk arra, hogy klorzapinnal kezelt pszichiátriai betegek *CYP2C19* genotípusa és expressziója milyen szerepet játszik a klorzapin metabolizmusában, illetve a klorzapin vérszint kialakulásában.
4. Összefüggést kerestünk aripirazollal kezelt betegek *CYP2D6*, *CYP3A4* és *CYP3A5* genotípusa, CYP3A4 expressziója, valamint az aripirazol és a fő metabolit dehidro-aripirazol szérumban koncentrációi között.
5. Végül megvizsgáltuk, hogy az aripirazol mellett gyakran alkalmazott, potenciális CYP2D6 inhibitorok párhuzamos terápiája befolyásolja-e az aripirazol metabolizmusát.

3 Alkalmazott módszerek

3.1 *In vitro* genotípus-alapú fenotípus becslés vizsgálatok

3.1.1 Humán májszövet minták

Az *in vitro* specifikus CYP enzimaktivitás vizsgálatokba 128 (dextrometorfán O-demetilézés), illetve 114 (mefenitoin 4'-hidroxilezés) szervdonortól származó humán májszövet mintát vontunk be, melyeket a Semmelweis Egyetem Transzplantációs és Sebészeti Klinika biztosított. Az MTA Természettudományi Kutatóközpont Metabolikus Gyógyszer-kölcsönhatások Laboratóriuma rendelkezik a Tudományos és Kutásetikai Bizottság engedélyével humán májszövet tudományos célból történő felhasználásához. A specifikus CYP enzimaktivitás meghatározáshoz humán májszövetből preparált mikroszóma frakciót használtunk.

3.1.2 Specifikus CYP enzimaktivitás meghatározása

A CYP enzimaktivásokat a CYP2C19-specifikus mefenitoin 4'-hidroxiláz, illetve a CYP2D6-specifikus dextrometorfán O-demetiláz reakciókkal határoztuk meg. Az inkubációs elegy tartalmazta a NADPH-regeneráló rendszert, a humán máj mikroszómát és az adott átalakítandó szubsztátot. A megfelelő reakciókörülményeket 0,1 M Tris-HCl (pH=7,4) puffer biztosította. Az inkubálás 37°C-on, molekuláris oxigén jelenlétében történt. A reakciót jéghideg metanol hozzáadásával állítottuk le. A képződött 4'-hidroxi-mefenitoin mennyiségét LC-MS/MS módszerrel, a dextrometorfán mennyiségi meghatározásához HPLC-UV kromatográfiás rendszert használtunk. A specifikus CYP enzimaktivitás értékeket molárisan, fehérje-tartalomra és inkubációs időre vonatkoztatva adtuk meg.

3.1.3 CYP2C19 és CYP2D6 allélvariánsokra jellemző SNP-k kimutatása

A májszövetekből történt DNS-izolálást követően a kaukázusi populációban leggyakrabban előforduló allélvariánsokra jellemző SNP-k kimutatását RT-PCR (real-time PCR) technikával végeztük TaqMan-próbák felhasználásával. A fenti technikát alkalmaztuk mind az egy bázis cserével (*CYP2C19**2, *CYP2C19**3, *CYP2C19**4, *CYP2C19**17, *CYP2D6**4, *CYP2D6**10, *CYP2D6**41, *CYP3A5**3), mind az egy bázis kieséssel (*CYP2D6**3, *CYP2D6**6) járó polimorfizmusok, valamint a CYP2D6 szabályzó szakaszán található -1584C>G SNP kimutatására. A reakciókhoz Luminaris Probe qPCR Master Mix-et (Thermo Fisher Scientific) használtunk, a gyártó által megadott hőmérséklet-protokoll szerint.

3.1.4 CYP2D6 allél-specifikus kópiaszámának meghatározása

A *CYP2D6* allélvariánsai között található a gén kópiaszámát érintő polimorfizmusok (CNV-k) is, mint a teljes gén deléció, duplikáció, multiplikáció, és ezek értelemszerűen befolyásolják a génexpressziót, ezáltal a *CYP2D6* enzimaktivitást. A *CYP2D6* gén kópiaszámát kvantitatív PCR (qPCR) technika és CFX96 Real-Time PCR (Bio-Rad Laboratories) készülék segítségével határoztuk meg. A mérésekhez a *CYP2D6* génre kifejlesztett TaqMan Copy Number Assay-t (Assay ID: Hs00010001_cn; Thermo Fisher Scientific) alkalmaztuk. A humán genomban mindig két kópiában megtalálható *RNáz P*-t használtuk referenciaként. A kereskedelmi forgalomban kapható TaqMan Copy Number Assay a *CYP2D6* össz-kópiaszámát határozza meg, és mivel a duplikáció vagy multiplikáció a polimorf allélvariánsokat is érintheti, ezért heterozigóta minták esetén nem állapítható meg egyértelműen, hogy melyik allél van jelen több kópiában. Ennek a problémának a kiküszöbölése érdekében fejlesztettünk egy, a *CYP2D6* leggyakrabban előforduló, működésképtelen gént eredményező *CYP2D6*4* allélvariánsára allél-specifikus kópiaszám-mérésre alkalmas módszert, mely a SNP genotipizáló és a qPCR technikák ötvözésén alapszik. A genotipizáláshoz használt, a *CYP2D6*1* illetve *CYP2D6*4* allélokra specifikus TaqMan próbák mellett az *RNáz P* referencia génnel (Thermo Fisher Scientific) egyidejűleg futtatott minta *CYP2D6*1* és *CYP2D6*4* kópiaszámait külön-külön meghatározásra kerülnek (multiplex mérés). A méréshez Luminaris Probe qPCR Master Mixet (Thermo Fisher Scientific) használtunk.

3.1.5 CYP2C19 mRNS expresszió mérése

RNS-izolálást, majd reverz transzkripciót követően a májszövetek CYP2C19 mRNS szintjének mérése qPCR technikával történt és relatív mennyiségi meghatározáson alapult. Referenciának a gliceraldehid 3-foszfát dehidrogenáz (GAPDH-t) mRNS szintjét tekintettük. A qPCR reakcióhoz 2x Kapa Probe Fast qPCR Master Mix-et (Kapa Biosystems, Wilmington, MA) használtunk, a hőmérsékletprotokoll a gyártó ajánlása szerint zajlott.

3.2 Klinikai vizsgálatok

3.2.1 Humán vérminták

A vizsgálatokba 116 klozapinnal és 93 aripirazollal kezelt pszichiátriai beteget vontunk be. A betegek stabil klozapin, illetve aripirazol terápián voltak, a hatóanyagokat a mintavételt megelőzően legalább két hétig azonos dózisban kapták. A vérmintákat a Semmelweis Egyetem Pszichiátriai és Pszichoterápiás Klinikájától kaptuk. A betegek a vizsgálatban való részvételhez írásban járultak hozzá. Az MTA Természettudományi Kutatóközpont Metabolikus Gyógyszer-kölcsönhatások Kutatócsoportja rendelkezik a Tudományos és Kutásetikai Bizottság

szükséges engedélyeivel pszichiátriai betegek vérmintáinak tudományos célból történő felhasználásához.

3.2.2 Vérszint mérések

Az antipszichotikum és metabolit vérszintek meghatározásához a vérvételre a reggeli gyógyszer-bevételt megelőzően, hozzávetőleg 12 órával az utolsó dózist követően került sor. A natív vérmintákat centrifugáltuk (4 °C, 10 perc, 1000xg), majd a szérumot leszívtuk. A klozapin, aripiprazol és metabolitjaik (klozapin N-oxid, N-dezmetil-klozapin, dehidro-aripiprazol) steady-state koncentrációinak meghatározását LC-MS/MS technikával végeztük.

3.2.3 A gyógyszer-metabolizáló képesség becslése

A pszichiátriai betegek aktuális CYP2C19, CYP2D6 és CYP3A metabolikus kapacitását a CYPtest diagnosztikai rendszer alapján mértük. A módszer egyrészt magában foglalja a *CYP2C19*, *CYP2D6*, *CYP3A4* és a *CYP3A5* gének polimorfizmusainak kimutatását, másrészt a fehérvérsejtekben mérhető CYP2C19 és CYP3A4 mRNS szintek meghatározásával becsülhetővé válik ezeknek májban jellemző expressziója és aktuális enzimaktivitása. A klozapinnal kezelt betegeknél a *CYP2C19* genotípus és a CYP2C19 mRNS expresszió mérését végeztük el. Az aripiprazol metabolizmusában a CYP2D6 és a CYP3A enzimek szerepét igyekeztünk tisztázni, így a vizsgálatunk a *CYP2D6*, a *CYP3A4* és a *CYP3A5* gének polimorf allélvariánsainak kimutatására, illetve a CYP3A4 mRNS szint meghatározására terjedt ki.

3.3 Az aripiprazol metabolizmus gátlásvizsgálata

Az aripiprazol metabolizmusát *in vitro* humán máj mikroszóma frakcióval, potenciális gátlószerek (risperidon, 9-hidroxi-risperidon, metoprolol és propranolol) jelenlétében vizsgáltuk. A kísérletekhez három humán szervdonor májszövetéből izolált mikroszóma frakciót használtunk. 60 perces inkubálást követően a reakciót jéghideg, karbamazepin belső standard tartalmú acetonitril hozzáadásával állítottuk le. A képződött metabolitok mennyiségét LC-MS/MS technikával analizáltuk. A potenciális gátlószerek K_i értékeit Dixon ábrázolás (a reakciósebesség reciproka ábrázolva az inhibítor koncentráció függvényében) segítségével állapítottuk meg.

3.4 Statisztikai értékelés

A specifikus CYP enzimaktivitások gyakorisági eloszlását Kolmogorov-Szmirnov-próbával (OriginPro 2018, OriginLab Co., Northampton, MA) vizsgáltuk. A mért aktivitások alapján négy fenotípus kategóriát különítettünk el: a legalacsonyabb aktivitást mutató 10-15% a gyenge, a legmagasabb 10-15%-kal rendelkezők az ultra-gyors metabolizálók csoportját

alkották, míg a középső halmazba tartozó intermedier és extenzív metabolizálók közötti 'cut-off' értéket az aktivitások medián értéke jelentette.

A szervdonorok genotípusa alapján szintén négy kategóriába (gyenge, intermedier, extenzív, ultra-gyors metabolizáló) soroltuk a mintákat. A különböző *CYP2C19* diplotípussal rendelkező csoportok enzimaktivitás és mRNS expressziós eredményeinek összehasonlításához Mann-Whitney-tesztet alkalmaztunk.

Az aripiprazollal kezelt pszichiátriai betegek mintáinak elemzése során a *CYP3A4* expresszió, a *CYP2D6* és a *CYP3A5* genotípus mint változók aripiprazol vérszintre gyakorolt hatását főkomponens-analízissel és részleges legkisebb négyzetek (PLS – partial least-squares regression) módszerével vizsgáltuk. Az aripiprazol vérszintek és a dehidro-aripiprazol/aripiprazol arány *CYP2D6* diplotípus csoportok közötti különbségeinek vizsgálata Kruskal-Wallis variancia-analízissel és Dunn-tesztel történt. A normalizált klozapin vérszintek *CYP2C19* diplotípus csoportok közötti különbségeinek értékeléséhez szintén Kruskal-Wallis variancia-analízist és az ezt követő Dunn-tesztet alkalmaztuk.

4 Eredmények összefoglalása

1. A CYP genotípus-fenotípus összefüggések *in vitro* vizsgálata során igazoltuk, hogy a *CYP2C19* és *CYP2D6* genotípus csak részben határozza meg az egyének fenotípusát. A *CYP2C19* fenotípus becslés hatékonysága jelentősen elmaradt a *CYP2D6* becslés során tapasztaltaktól, mely feltehetően a *CYP2C19* gén szabályozó régiójában található xenobiotikum-érzékeny szakaszoknak köszönhető, mivel ezek a *CYP2D6* transzkripció szabályzásában nem vesznek részt. Ezenkívül olyan külső, nem-genetikai tényezők, mint a krónikus alkoholfogyasztás, amoxicillin/klavulánsav terápia, *CYP2C19* illetve *CYP2D6* szubsztrát/inhibitor terápia vagy gyulladással járó krónikus megbetegedés, képesek lehetnek a *CYP2C19* és *CYP2D6* metabolikus kapacitás megváltoztatására, így téves genotípus-alapú fenotípus becsléshez vezethetnek.
 2. Mind az *in vitro*, mind a pszichiátriai betegeken végzett *in vivo* vizsgálatok tapasztalatai azt mutatják, hogy a *CYP2C19**17/*17 diplotípust hordozó egyéneknél magasabb a kockázata a fokozott génexpresszió és a *CYP2C19* ultra-gyors metabolizáló fenotípus kialakulásának, azonban nem-genetikai tényezők erősen befolyásolhatják a *CYP2C19* fenotípust, és módosíthatják a metabolikus kapacitást.
 3. Igazoltuk, hogy a klozapin metabolizmusában *in vivo* sem a *CYP2C19* genotípusnak, sem a *CYP2C19* expresszióknak nincsen számottevő szerepe, ezáltal a *CYP2C19*-státusz jelentősége a klozapin klinikai alkalmazásában elhanyagolható.
 4. Klinikai vizsgálataink alapján megállapítottuk, hogy az aripiprazol steady-state szérumszintjeit és a dehidro-aripiprazol képződését elsősorban a *CYP2D6* genotípus határozza meg, míg a CYP3A enzimek hozzájárulása az *in vivo* aripiprazol clearance-hez nem számottevő. Továbbá megállapítottuk, hogy a risperidon, metoprolol vagy propranolol, mint *CYP2D6* inhibitorok párhuzamos alkalmazása módosítja az aripiprazol expozíciót a *CYP2D6* vad típusú allélt hordozó betegeknél.
- Eredményeink azt jelzik, hogy a betegek *CYP2D6* genotípusa és a *CYP2D6* inhibitorok párhuzamos alkalmazása tekinthető a legfontosabb tényezőnek az aripiprazol farmakokinetikai viselkedésében. Azonban további *in vivo* vizsgálatok szükségesek annak megválaszolásához, hogy a *CYP2D6* genotípus és a *CYP2D6* inhibitor komedikáció figyelembevételével javítható-e az aripiprazol terápia kimenetele.

5 Következtetések

A *CYP2C19* és a *CYP2D6* genotípus csak részben határozza meg a fenotípust. A *CYP2D6* genotípus-alapú fenotípus becslés jelentősen hatékonyabbnak bizonyult a *CYP2C19*-nél tapasztaltakkal, mely feltehetően a két gén eltérő szabályozó mechanizmusaival magyarázható. A *CYP2C19* promóter régiója számos nukleáris receptor kötő szakaszt tartalmaz (CAR/PXR, GR), ezáltal a külső tényezők nagyobb szerepet játszanak a génexpresszió szabályozásában. A genotípus-alapú fenotípus becslés ellentmondásai hátterében számos nem-genetikai tényező potenciális szerepét azonosítottuk, így javulhat a becslés hatékonysága, amennyiben figyelembe vesszünk olyan tényezőket, mint a krónikus alkoholfogyasztás, amoxicillin/klavulánsav terápia, *CYP2C19*/*CYP2D6* inhibitor/szubsztrát terápia, illetve krónikus, gyulladással járó megbetegedések, melyek a genotípus alapján becsülnél alacsonyabb CYP enzimaktivitást idézhetnek elő. Számos donort, melyek egy vagy két működőképes *CYP2C19* vagy *CYP2D6* allélt hordoztak - feltehetően nem-genetikai hatások következtében - gyenge metabolizáló fenotípus jellemzett. Gyenge metabolizmus esetén indokolt lehet a *CYP2C19* vagy *CYP2D6* érintettségű hatóanyagok dózisának csökkentése, ezért fontos tekintetbe venni a nem-genetikai tényezők fenotípusra gyakorolt hatását.

A *CYP2C19**17/*17 diplotípust fokozott *CYP2C19* expresszió jellemzi, melyet bár a nem-genetikai tényezők erősen befolyásolhatnak, esetükben magasabb gyakorisággal fordul elő ultra-gyors metabolizáló fenotípus, mely információ felhasználható a *CYP2C19* enzim által metabolizált hatóanyagok terápiájánál.

Az antipszichotikum vérszint és a betegek CYP-státusa közti összefüggések vizsgálata során megállapítottuk, hogy a *CYP2C19* enzimnek nincsen számottevő szerepe a klozapin metabolizmusában. Az aripiprazol farmakokinetikáját ugyanakkor egyértelműen a *CYP2D6* genotípus és a *CYP2D6* inhibitorok párhuzamos terápiája határozza meg, míg a *CYP3A* enzimek hozzájárulása az aripiprazol clearance-hez elhanyagolható. Megállapításainkat felhasználva javíthatóvá válhat az aripiprazol terápiás hatékonysága, hiszen a *CYP2D6* genotípus és a *CYP2D6* inhibitorok párhuzamos terápiájának figyelembevételével csökkenthető a kiugróan magas aripiprazol szérumszintek (>300 ng/ml), ezáltal a káros mellékhatások kialakulásának kockázata.

6 Közlemények

6.1 Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

Tóth K, Csukly G, Sirok D, Belic A, **Kiss Á**, Háfra E, Déri M, Menus Á, Bitter I, Monostory K. Potential Role of Patients' CYP3A-Status in Clozapine Pharmacokinetics. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2017; 20(7):529-537.

Kiss ÁF, Vaskó D, Déri MT, Tóth K, Monostory K. Combination of CYP2C19 genotype with non-genetic factors evoking phenoconversion improves phenotype prediction. *Pharmacol Rep.* 2018; 70(3):525-532.

Kiss ÁF, Tóth K, Juhász C, Temesvári M, Paulik J, Monostory K. Is CYP2D6 phenotype predictable from CYP2D6 genotype? *Microchem J.* 2018; 136:209-214.

Kiss Á, Menus Á, Tóth K, Déri M, Sirok D, Gabri E, Belic A, Csukly G, Bitter I, Monostory K. Phenoconversion of CYP2D6 by inhibitors modifies aripiprazole exposure. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2019; doi: 10.1007/s00406-018-0975-2. [Epub ahead of print]

6.2 Az értekezés témájában megjelent egyéb publikációk

Büdi T, Tóth K, Nagy A, Szever Z, **Kiss Á**, Temesvári M, Háfra E, Garami M, Tapodi A, Monostory K. Clinical significance of CYP2C9-status guided valproic acid therapy in children. *Epilepsia.* 2015; 56(6):849-55.

Tóth K, Büdi T, **Kiss Á**, Temesvári M, Háfra E, Nagy A, Szever Z, Monostory K. Phenoconversion of CYP2C9 in epilepsy limits the predictive value of CYP2C9 genotype in optimizing valproate therapy. *Per Med.* 2015; 12(3):199-207.

Monostory K, Tóth K, **Kiss Á**, Háfra E, Csikány N, Paulik J, Sárváry E, Kóbori L. Personalizing initial calcineurin inhibitor dosing by adjusting to donor CYP3A-status in liver transplant patients. *Br J Clin Pharmacol.* 2015; 80(6):1429-37.

Tóth K, Büdi T, **Kiss Á**, Temesvári M, Háfra E, Nagy A, Szever Z, Monostory K. Phenoconversion of CYP2C9 in epilepsy limits the predictive value of CYP2C9 genotype in optimizing valproate therapy. *Per Med.* 2015; 12(3):199-207.

Tóth K, Csukly G, Sirok D, Belic A, **Kiss Á**, Háfra E, Déri M, Menus Á, Bitter I, Monostory K. Optimization of Clonazepam Therapy Adjusted to Patient's CYP3A Status and NAT2 Genotype. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2016; 19(12). pii: pyw083.

Monostory K, Büdi T, Tóth K, Nagy A, Szever Z, **Kiss Á**, Temesvári M, Háfra E, Tapodi A, Garami M. In response: Commentary on clinical significance of CYP2C9-status-guided valproic acid therapy in children. *Epilepsia.* 2016; 57(8):1339-40.

Tóth K, Sirok D, **Kiss Á**, Mayer A, Pátfalusi M, Hirka G, Monostory K. Utility of in vitro clearance in primary hepatocyte model for prediction of in vivo hepatic clearance of psychopharmacocons. *Microchemical Journal.* 2018; 10.1016/j.microc.2016.10.028

Kovács T, Déri M, Fülöp A, Pálházy T, Háfra E, Sirok D, **Kiss ÁF**, Lotz G, Szijártó A, Monostory K. Isoform-Dependent Changes in Cytochrome P450-Mediated Drug Metabolism after Portal Vein Ligation in the Rat. *Eur Surg Res.* 2018; 59(5-6):301-319.

Monostory K, Nagy A, Tóth K, Büdi T, **Kiss Á**, Déri M, Csukly G. Relevance of CYP2C9 Function in Valproate Therapy. *Curr Neuropharmacol.* 2019; 17(1):99-106.